



DESARROLLO DE RUTINAS PARA ANÁLISIS AUTOMATIZADO DE TOMOGRAFÍA NO DESTRUCTIVA DE RESONANCIA MAGNÉTICA EN ESPUMAS Y GELES

Campos, Noelia; Melado, Ángela; Rivas, Eva M^a

Tutores: Correa-Hernando, Eva; de Silóniz, María Isabel

Departamento de Ciencia y Tecnología Aplicadas a la Ingeniería Técnica Agrícola. Universidad Politécnica de Madrid.

Departamento de Microbiología. Facultad de Biología. Universidad Complutense de Madrid.

Correo electrónico: noelia.campos.fernandez@alumnos.upm.es; angela.melado@upm.es; e.rivas@bio.ucm.es.

RESUMEN

La microestructura (en el rango 0.1–100 μm) tiene un importante impacto en el procesado y propiedades físico-químicas y organolépticas de los alimentos, tal y como se refleja en la propuesta del proyecto europeo INSIDEFOOD (*Integrated sensing and imaging devices for designing, monitoring and controlling microstructure of foods*) que utiliza matrices alimentarias artificiales a base de geles y espumas como modelos estandarizados para el estudio de la microestructura. Concretamente se ha trabajado con espumas y geles azucarados (a base de fructosa), espumas no azucaradas (0% fructosa, a base de agarosa), como símiles de alimentos de elevada porosidad y geles de gelatina comúnmente utilizados como símiles de productos cárnicos. El objetivo de este trabajo es el estudio no invasivo de la microestructura de estos geles y espumas mediante Resonancia Magnética Nuclear (NMR): tanto tomografía (MRI), como relaxometría 2D, así como la implementación de herramientas de análisis de imagen, empleando el entorno de Matlab®: segmentación, filtros morfológicos y análisis de textura. Este procedimiento permite evaluar la distribución y disponibilidad del agua, así como distribución y tamaño de poros, entre otros parámetros de interés.

Palabras clave: *microestructura, distribución del agua, porosidad*

INTRODUCCIÓN

La mayoría de las propiedades macroscópicas de los alimentos dependen de sus características microestructurales. Ramírez *et al.* (2009) indican que, entre otras, propiedades reológicas como viscosidad o elasticidad, propiedades texturales como crujiente, firmeza o jugosidad, propiedades como densidad, estabilidad de una emulsión, la distribución y transporte de agua así como la difusión de gases en un alimento están relacionadas con su microestructura. Las propiedades físico-químicas y organolépticas dependen en gran medida de la distribución a nivel microscópico de gases y agua, y de su conectividad y su movilidad a través de los poros (Hills *et al.*, 1996; Vittadini *et al.*, 2005).

La caracterización microestructural de un alimento mediante técnicas no invasivas puede llevarse a cabo por: tomografía o (micro) imagen de resonancia magnética (MRI) y micro-tomografía computerizada (μCT) de rayos X, y espectroscopía de resonancia magnética nuclear (NMR) combinada con la aplicación de métodos de difusión y relaxometría multidimensional. La μCT de rayos X proporciona imágenes en 2D y 3D de la estructura interna de los objetos con alta resolución y sin la necesidad del pretratamiento o acondicionamiento previo de la muestra, sin embargo la dificultad de aplicarla en alimentos de alta densidad, alto contenido en agua y pequeñas diferencias en los coeficientes de atenuación entre fases (lo que disminuye el contraste de la imagen y por tanto la resolución) hace que en estos casos sea imprescindible recurrir a las técnicas de resonancia magnética para la caracterización microestructural de los alimentos.



Este trabajo se enmarca en el desarrollo del proyecto europeo INSIDEFOOD (*Integrated sensing and imaging devices for designing, monitoring and controlling microstructure of foods*) que utiliza matrices alimentarias artificiales a base de geles y espumas como modelos estandarizados para el estudio de la microestructura. El objetivo que se plantea es el estudio no invasivo de la microestructura de estos modelos mediante tomografía (MRI) y relaxometría 2D, así como la implementación de herramientas de análisis de imagen.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para llevar a cabo el experimento se ha utilizado un modelo reológico tipo espuma con alto contenido en agua y elevada porosidad. Se han utilizado dos formulaciones para la obtención por un lado de una espuma “azucarada” (135 g fructosa, 45 g dextrosa, 2.8 g agar-agar, 1.4 g albúmina y 140 ml agua destilada), y por otro de una espuma no “azucarada” (2.8 g agarosa, 140 ml agua destilada y 0.9996 g Tween 60). Las muestras todavía fluidizadas tras su elaboración, fueron succionadas con jeringuillas de 20 ml, truncadas (se las había retirado el extremo apical), que sirvieron como soporte de la muestra para su estabilización en frío y para posteriormente la realización de los ensayos. El material plástico de las jeringuillas resulta transparente a la resonancia magnética aplicada, lo que permite realizar la medida de la muestra sin que el material del soporte origine ninguna interferencia. Las jeringuillas se mantuvieron selladas con parafilm para evitar la desecación de las espumas. En total se realizaron nueve muestras al preparar tres repeticiones de la espuma “azucarada”, otras tres repeticiones de la espuma “no azucarada” y tres repeticiones más en las que la mitad de la jeringuilla se rellenó con la espuma “azucarada” y la otra mitad con la espuma “no azucarada”.

Tras la preparación y estabilización en frío de las muestras, éstas se trasladaron al CAI de Resonancia Magnética Nuclear, de la Universidad Complutense de Madrid, donde fueron ensayadas en un imán Bruker BioSpec 47/40 (Ettlingen, Alemania), que midió las muestras con un campo magnético de 4.7 Teslas, equipado con un sistema de gradientes de 6 cm de diámetro, capaz de generar un gradiente de 900 mT/m. Para la transmisión y la recepción se usó una sonda de radiofrecuencia de volumen de 3.5 cm de diámetro.

Se observó la evolución de las muestras a lo largo de tres días, para ver, a través de las imágenes de densidad protónica, los cambios que se producían en la macroestructura de las espumas y, mediante los mapas T1-T2 (siendo T1 la relajación longitudinal y T2 la relajación transversal), los cambios que experimentaba la microestructura de las mismas.

Para la caracterización macro y microestructural de las espumas los parámetros tanto en densidad protónica como en relaxometría deben ser optimizados para cada material e intensidad de campo magnético empleado. Así se ha ajustado la secuencia de eco epín con los siguientes parámetros para la obtención de las imágenes coronales potenciadas en densidad protónica: tiempo de repetición (TR) varió entre 5003 y 5220 ms, tiempo de eco (TE) de 7 ms, field of view (FOV) de 18 cm²; anchura del corte (SLTH) de 2 mm y una matriz de 256x128 píxeles. Las imágenes axiales potenciadas en T1 se adquirieron usando una secuencia de eco de epín con TR de 1000 ms, TE de 7 ms, FOV de 36 cm², SLTH de 2 m y matriz de adquisición de 256x192 píxeles. Los datos adquiridos fueron "rellenados con cero" para obtener una matriz reconstruida de 256x256 píxeles. Para los mapas bidimensionales de tiempos de relajación T1-T2 se usó una secuencia CPMG con inversión. Se adquirieron en total 64 pasos de inversión con tiempos de inversión (TI) que iban desde 50 ms a 10 s con una escala logarítmica. Para cada paso de inversión se adquirieron 128 ecos con un TE de 3 ms. Los mapas fueron adquiridos cada 30 minutos durante 7 horas aproximadamente.



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Imagen 1 muestra como la diferente formulación y protocolo de preparación de las dos espumas definen características microestructurales diferenciales para ambos tipos de espumas. La espuma “no azucarada” aparece como un material mucho más aireado (como corresponde a su menor densidad), con mayor número de poros y de mayor tamaño, frente a la espuma “azucarada” 1.3 veces más densa y caracterizada por un menor tamaño medio del poro, como se puede apreciar visualmente.

Imagen 1. Fotografías tomadas al microscopio de 10 aumentos, la imagen de la izquierda corresponde a la espuma “no azucarada” y la de la derecha a la espuma “azucarada” (escala 200 micras).

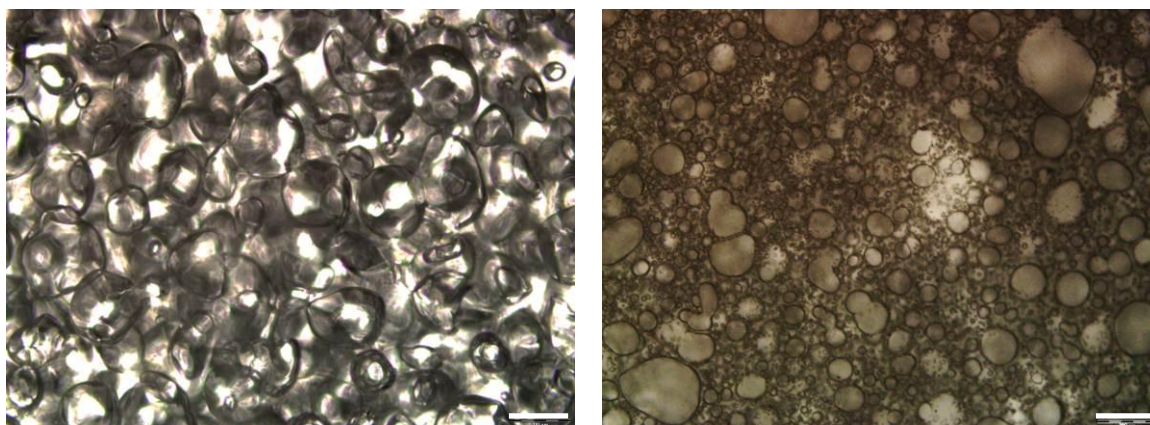
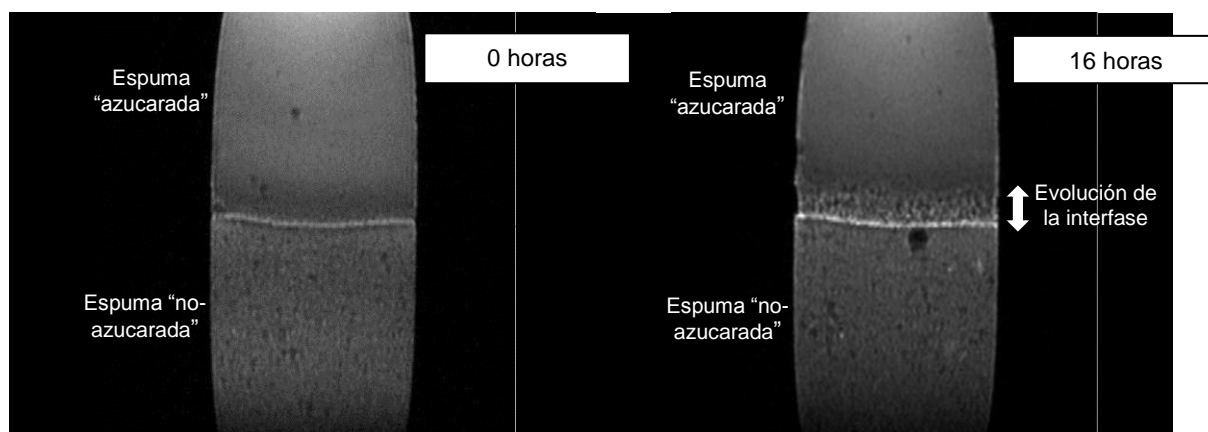


Imagen 2. Evolución temporal de las imágenes de densidad protónica correspondientes a un corte longitudinal de la muestra mixta (espuma “azucarada” más espuma “no azucarada”).

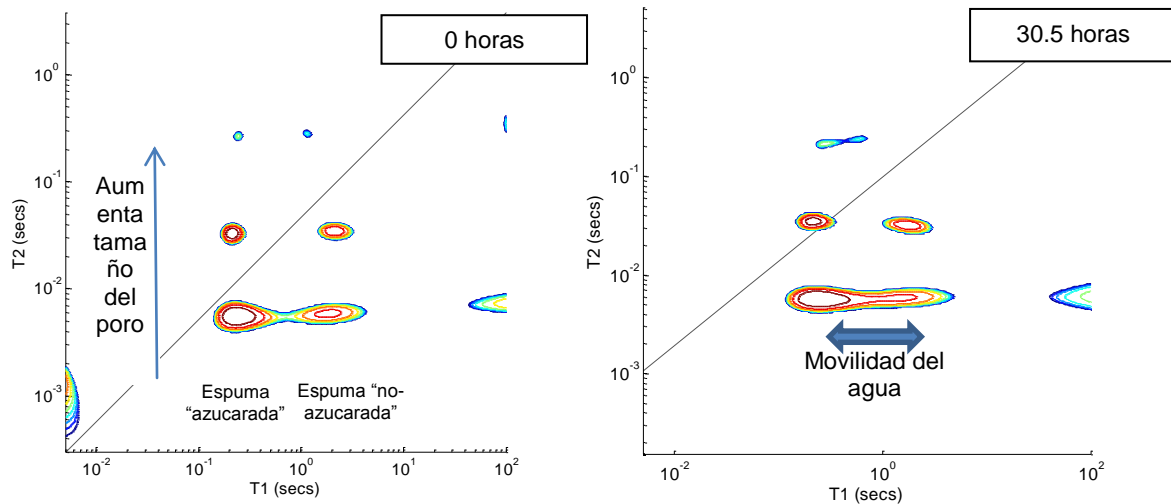


La imágenes de densidad protónica (Imagen 2) indican como tras haber hecho un seguimiento de 16 horas de una muestra mixta de espuma “azucarada” y “no azucarada”, se observaron cambios macroscópicos en su estructura, siendo sin embargo imposible observar los cambios microestructurales que pudieran haber tenido lugar. La evolución temporal de la espuma “no azucarada” está caracterizada por el fenómeno de sinéresis microscópica que puede llegar a dar lugar a la aparición de agua libre. En la zona de la interfase entre ambas espumas se observa (Imagen 2) tras 16 horas de almacenamiento un aumento del brillo que se corresponden con la aparición de ese agua libre, cuya difusión a través de la espuma “azucarada” puede explicar los cambios macroestructurales que se observan en esa espuma situada inmediatamente por encima de dicha interfase.



Con la técnica de relaxometría bidimensional T1-T2 se consigue diferenciar las dos espumas y observar los cambios a nivel microscópico. En la imagen 3 se observan las diferencias entre distinto tamaño de poro y la evolución de la microestructura tras 30.5 horas como consecuencia de la redistribución del agua libre a través de los grandes poros y a los fenómenos de capilaridad en los poros más pequeños, entre ambas espumas.

Imagen 3. Mapas T1-T2 de relaxometría bidimensional de la muestra mixta, tras el seguimiento realizado durante 30.5 horas.



CONCLUSIONES

Al aplicar la técnica de resonancia magnética observamos que si bien las imágenes de densidad protónica aportan información a nivel de la macroestructura de las espumas, son los mapas T1-T2 obtenidos por relaxometría los que nos indican los cambios a nivel microestructural, tanto entre espumas de diferente formulación como en su evolución temporal.

Agradecimientos

Nuestro más sincero agradecimiento a Brian Hills (IFR, England) Pilar Barreiro Elorza (ETSIA - Universidad Politécnica de Madrid), María Isabel de Silóniz, (facultad de Biología de la Universidad Complutense de Madrid), Miguel Ángel Lara Blas (EUITA, de la Universidad Politécnica de Madrid) y María Encarnación Fernández Valle (Coordinador sede Pluridisciplinar, Tec. Grad. Superior RMN), así como por el soporte económico al proyecto INSIDEFOOD y al CEI Moncloa.

BIBLIOGRAFÍA

- Hills B.P., Manning C.E., Ridge Y., Brocklehurst T. (1996). Journal of the Science of Food and Agriculture 71:185-194. DOI: 10.1002/(sici)1097-0010(199606)71:2<185::aid-jsfa567>3.0.co;2-5.
- Ramirez C., Germain J.C., Aguilera J.M. (2009). Journal of Food Science 74:R65-R72. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2009.01220.x.
- Vittadini E., Chinachoti P., Lavoie J.P., Pham X. (2005). Food Science & Emerging Technologies 6:21-28. DOI: 10.1016/j.ifset.2004.11.001.